

# Zur gravimetrischen Bestimmung der Sterine in Eierkonserven und Teigwaren

Autor(en): **Hadorn, H. / Jungkunz, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und  
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **42 (1951)**

Heft 5

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982467>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Zur gravimetrischen Bestimmung der Sterine in Eierkonserven und Teigwaren

Von *H. Hadorn* und *R. Jungkuntz*  
(Laboratorium VSK, Basel)

Im schweiz. Lebensmittelbuch <sup>1)</sup> wird für die Cholesterinbestimmung in Eierkonserven und eierhaltigen Lebensmitteln, wie Eierteigwaren, eine Methode angegeben, welche sich auf die klassische Digitoninmethode von *Windaus* <sup>2)</sup> stützt. Dabei wird unterschieden die Bestimmung des freien und diejenige des gesamten Cholesterins. In den tierischen Fetten liegt das Cholesterin im allgemeinen zum weitaus grössten Teil in freiem Zustande vor (im Eieröl z.B. zu ca. 90 %), während das Phytosterin von Pflanzenfetten in der Esterform vorherrscht. Allgemein dürfte es sich empfehlen, für die gravimetrische Methode die *Fettsäuren* zu benutzen, weil auf diese Weise das *Gesamtcholesterin* erfasst wird. Nach unserer Erfahrung erhält man nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches nicht immer befriedigende Werte. In den meisten Fällen wird der Steringehalt zu hoch gefunden, wie bereits *Terrier* <sup>3)</sup> festgestellt hat. Zuverlässige Resultate findet man dagegen nach der kolorimetrischen Methode von *Riffart* und *Keller* <sup>4)</sup>, welche besonders für Serienuntersuchungen geeignet ist und die sich auch zur Cholesterinbestimmung in diätetischen Nahrungsmitteln <sup>5)</sup> gut bewährt hat. Diese Methode erfasst sowohl die freien als auch die gebundenen Sterine.

Für Einzelanalysen wäre es jedoch hie und da erwünscht, auch eine einfache und zuverlässige gravimetrische Methode zur Hand zu haben. Aus diesem Grunde sollen die verschiedenen in der Literatur beschriebenen Methoden diskutiert und überprüft werden. Zum Schluss folgt eine von uns etwas modifizierte Vorschrift, welche zuverlässige Werte liefert, wie durch zahlreiche Beleganalysen gezeigt wird.

## Diskussion der verschiedenen Vorschriften für die Digitoninfällung

Wie bereits erwähnt, liefert die Lebensmittelbuchmethode unzuverlässige, zu hohe Werte. *Terrier* (loc. cit.) fand bei Modellversuchen mit reinen Cholesterinlösungen Werte, welche bis 113 % der Einwaage betrogen. Bei eigenen Modellversuchen wurden ebenfalls zu hohe Werte gefunden, wie die nachstehenden Beispiele zeigen.

| Einwaage Cholestrin<br>mg | Gefunden<br>mg | In %<br>der Einwaage |
|---------------------------|----------------|----------------------|
| 18,3                      | 19,5           | 106,5                |
| 15,0                      | 15,9           | 106,1                |

Noch ungünstiger sind die Verhältnisse, wenn geringe Mengen Sterine neben Fett oder Fettsäuren bestimmt werden sollen. So fanden wir beispielsweise in

einem Spezial-Hartweizengriess nach der Lebensmittelbuchmethode 62 bzw. 82 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Sterine, während der wirkliche Gehalt nur 32 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> betrug.

*Terrier* kommt auf Grund seiner Untersuchungen zum Schluss, dass überschüssiges Digitonin als Ursache für diese Unstimmigkeiten anzusehen sei. Dieses scheidet sich beim Eindampfen der Lösung gleichzeitig mit den Digitoniden aus und kann später beim Auswaschen nicht mehr in Lösung gebracht werden. Er schlägt daher vor, den Digitonin-Überschuss zu reduzieren und ihn möglichst gering zu halten.

In diesem Zusammenhang war es interessant, einmal an Hand der Literatur festzustellen, welche Digitoninmengen von den verschiedenen Autoren zur Fällung vorgeschrieben werden (Tabelle 1). Nach Lebensmittelbuch beansprucht 1 Teil Cholesterin theoretisch 3,13 Teile Digitonin.

*Tabelle 1*  
*Fällungsbedingungen nach verschiedenen Autoren*

| Autor   | Angewandte Fettmenge | Cholesterin pro Bestimmung | Vorgeschriebene Digitoninmenge | Verhältnis Digitonin / Cholesterin |
|---|----------------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Lebensmittelbuch <sup>1)</sup>                  | g                    | mg                         | mg                             |                                    |
|   | 0,3                  | ca. 13,5                   | 70                             | 5,3                                |
| <i>Terrier</i> <sup>3)</sup>                    | 0,3                  | ca. 13,5                   | 60                             | 4,5                                |
| <i>Tillmans, Riffart und Kühn</i> <sup>6)</sup> | —                    | 4,0                        | 20                             | 5,0                                |
| Internat. Fettkommission <sup>7)</sup>          | —                    | 10,0                       | 50                             | 5,0                                |
| <i>Riffart und Keller</i> <sup>8)</sup>         | —                    | max. 2,0                   | 20                             | 10,0                               |

Man sieht hieraus, dass in der Regel die 4—5fache, im letzten Fall sogar die 10fache Menge Digitonin der zu fällenden Sterinmenge angewendet werden soll.

*Grün* <sup>9)</sup> empfiehlt eine weitere Reinigung durch Lösen und Umfällen des abfiltrierten und ausgewaschenen Digitonid-Niederschlages. Dabei wird eventuell anhaftendes, ungelöstes, überschüssiges Digitonin entfernt. Der Niederschlag wird dabei in heissem absolutem Alkohol gelöst und zu der Lösung allmählich 10 Volumenteile Wasser und nach längerem Stehen abermals 10—15 Volumenteile Wasser zugesetzt. Nach einstündigem Stehen wird filtriert und der Niederschlag mit 90 %igem Alkohol gewaschen.

Diese Reinigung ist etwas umständlich, liefert aber gut brauchbare Resultate, wie nachstehendes Beispiel zeigt:

Cholesteringehalt in Eierspaghetti (hergest. mit 30 g Volleipulver pro kg Dunst):

|   |   |                                    |
|---|---|------------------------------------|
| gravimetrisch nach Lebensmittelbuch               | = | 132 mg <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| gravimetrisch nach der Umfällung nach <i>Grün</i> | = | 86 mg <sup>0</sup> / <sub>0</sub>  |
| kolorimetrisch nach <i>Riffart und Keller</i>     | = | 87 mg <sup>0</sup> / <sub>0</sub>  |

Nach der Lebensmittelbuchmethode findet man, wie mehrfach erwähnt, einen viel zu hohen Wert. Der nach erfolgter Reinigung nach *Grün* gefundene Cholesteringehalt stimmt dagegen gut mit dem kolorimetrisch ermittelten Wert überein.

*Riffart* und *Keller* verwenden bei ihrer Mikromethode einen auffallend grossen Digitoninüberschuss (10fache Menge des vorhandenen Cholesterins). Sie arbeiten jedoch unter andern Bedingungen, indem sie das Reaktionsgemisch zur Trockne verdampfen und den Digitoninüberschuss durch kochendes Wasser entfernen.

Es war nun naheliegend, die von *Riffart* und *Keller* angewandte Arbeitsweise auf die gravimetrische Cholesterinbestimmung mit etwas grösseren Sterinmengen zu übertragen. Bisher galt allerdings die Anwendung von heissem Wasser zur Entfernung von überschüssigem Digitonin als untauglich, da man Verluste an Digitoninsterid befürchtete. Nach einer Angabe im Handbuch<sup>10)</sup> sollen nach Versuchen von *Müller*<sup>11)</sup> durch 100 cm<sup>3</sup> siedendes Wasser 0,6 mg Digitonincholesterid in Lösung gehen. Obwohl *Riffart* und *Keller* sich zu diesen Löslichkeitsverhältnissen nicht äussern, ist auf Grund ihrer sorgfältig durchgeführten Kontrollbestimmungen bewiesen, dass dadurch keine nennenswerten Fehler entstehen können.

### Modellversuche zur eigenen gravimetrischen Methode

In Anlehnung an die Arbeitsweise von *Riffart* und *Keller* führten wir verschiedene Modellversuche nach der am Schluss dieser Arbeit angegebenen Methodik durch. Dabei wurde die Einwaage erhöht, so dass Cholesterinmengen zwischen 5 und 20 mg zur Anwendung gelangen und das Gewicht des Niederschlages mit genügender Genauigkeit auf der gewöhnlichen Analysenwaage bestimmt werden kann. Eine kleine Abänderung wurde noch am Reagens angebracht. Statt wie *Riffart* und *Keller* eine 0,5 %ige Digitoninlösung zu benutzen, fällten wir mit einer frisch bereiteten 1%igen Digitoninlösung, wodurch das Volumen der zu verdampfenden Flüssigkeit reduziert werden konnte.

Zum Abfiltrieren des Steridniederschlages werden nach Vorschriften des Lebensmittelbuches, sowie nach *Terrier*, *Riffart* und *Keller* Glassintertiegel empfohlen, während das Handbuch auch Wattefilter empfiehlt. Das Reinigen der Glassintertiegel ist meistens eine etwas umständliche Sache, und die Wattefilter haben den Nachteil, dass getrocknete Watte ziemlich hygroskopisch ist und daher während des Wägens Feuchtigkeit aufnimmt. Aus diesen Gründen haben wir uns für den bewährten Goohtiegel mit Asbestfüllung entschieden, der sich für diesen Zweck gut eignet.

#### a) Modellversuche mit reinem Cholesterin ohne Fett

Wechselnde Mengen reinen Cholesterins wurden abgewogen, in 5 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst, mit 10 cm<sup>3</sup> 1%iger Digitoninlösung versetzt und, wie im Abschnitt Me-

*Tabelle 2*  
*Cholesterinbestimmungen in Eikonserven und Teigwaren*  
*nach verschiedenen Methoden*

| Nr. | Bezeichnung   | Kolorimetrisch<br>nach <i>Riffart</i><br>und <i>Keller</i> | Gravimetrisch<br>nach der<br>neuen Methode |
|-----|---|--|--|
| 1   | Trockenvollei aus französischen<br>Schaleneiern, selbst hergestellt | 1,76 ‰   | 1,72 ‰                                     |
|     |   | 1,78 ‰   | 1,70 ‰                                     |
|     |   | 1,73 ‰   | 1,72 ‰                                     |
| 2   | Chinesisches Trockeneigelb des Handels                              | 2,77 ‰   | 2,81 ‰                                     |
|     |   | 2,73 ‰   | 2,82 ‰                                     |
|     |   | mg ‰   | mg ‰                                       |
| 3   | Selbst hergestellte Eierteigwaren (2 Eier)                          | 71   | 78   |
| 4   | Selbst hergestellte Eierteigwaren (4 Eier)                          | 119  | 118  |
|     |   |  | 122  |
| 5   | Selbst hergestellte Eierteigwaren (8 Eier)                          | 215  | 212  |
|     |   | 217  |  |
| 6   | Schnäggli Frischeierware  | 103,8  | 102,4                                      |
|     |   | 103,2  | 103,2                                      |
| 7   | Schnäggli Frischeierware  | 100,0  | 100,2                                      |
| 8   | Frischeiernudeln  | 103  | 98   |
| 9   | Eiernudeln  | 112  | 109  |
| 10  | Eierhörnli  | 81   | 82   |
| 11  | Eierhörnli  | 96   | 99   |
| 12  | Eierhörnli  | 106  | 110  |
| 13  | Eierhörnli  | 96   | 97   |
| 14  | Eierspaghetti   | 94   | 89   |
| 15  | Eierspaghetti   | 112  | 109  |
| 16  | Spaghetti Wasserware aus Hartweizen-<br>dunst                       | 42   | 41   |
|     |   |  | 40   |
| 17  | Spezial-Hartweizengriess  | 32   | 32   |
|     |   |  | 31   |

thodik beschrieben, weiter verarbeitet. Dabei ergaben sich folgende Resultate, welche durchwegs als gut zu bezeichnen sind:

|    | Angewandte Menge | Gefundene Menge |
|----|------------------|-----------------|
| 1. | 17,2 mg          | 17,0 mg         |
| 2. | 10,0 mg          | 9,8 mg          |
| 3. | 12,0 mg          | 12,5 mg         |

*b) Modellversuche mit Cholesterin und Fettsäuren*

Fett aus Eigelbpulver wurde verseift, das Unverseifbare entfernt und hernach die Fettsäuren isoliert. Von diesen reinen sterinfreien Fettsäuren wurden ca. 0,3 g eingewogen und bekannte Mengen Cholesterin zugesetzt.

|    | Angewandte Menge<br>Fettsäuren | Angewandte Menge<br>Cholesterin | Gefundene Menge<br>Cholesterin |
|----|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1. | 0,30 g                         | 9,1 mg                          | 9,7 mg                         |
| 2. | 0,30 g                         | 10,2 mg                         | 10,3 mg                        |
| 3. | 0,31 g                         | 12,1 mg                         | 12,1 mg                        |
| 4. | 0,30 g                         | 15,6 mg                         | 15,9 mg                        |

Auch bei diesen Modellversuchen wurden gute Resultate erhalten.

### c) Analyse von Eikonserven und Eierteigwaren

Zum Schluss wurde der Cholesteringehalt von Eikonserven und verschiedenen selbst hergestellten Eierteigwaren, sowie von Eierteigwaren des Handels nach der modifizierten gravimetrischen Methode bestimmt. Zur Kontrolle wurden in allen Fällen die Cholesterinbestimmungen auch nach der bewährten, kolorimetrischen Methode von *Riffart* und *Keller* durchgeführt. Wie aus den Resultaten der Tabelle 2 ersichtlich ist, wurde durchwegs eine gute Übereinstimmung der Werte erzielt, womit die Brauchbarkeit der neuen gravimetrischen Methode bewiesen sein dürfte.

## Methodik

*Reagens:* frisch bereitete 1,0 %ige Lösung von Digitonin in warmem 80 %igem Alkohol.  
 $1 \text{ cm}^3 = 10 \text{ mg}$  Digitonin  
 (auf 1 mg Cholesterin sind mindestens  $0,5 \text{ cm}^3$ , höchstens  $1 \text{ cm}^3$  Digitoninlösung anzuwenden).

*Fettgewinnung.* Die Gewinnung des Fettes erfolgt entweder durch 6stündige Extraktion mit Äther nach *Riffart* und *Keller* (loc. cit.) oder nach *Hadorn* und *Jungkunz*<sup>12)</sup> durch Extraktion mit Alkohol (95 %)-Benzol 1:1, und zwar in der Weise, dass, wie früher angegeben, das Faltenfilter mit Inhalt eine Stunde in die siedende Extraktionsflüssigkeit eingetaucht und hernach eine weitere Stunde im oberen Teil des Extraktionsapparates extrahiert wird. Diese zuletzt beschriebene Extraktion ergibt die Gesamtlipoide.

*Sterinbestimmung.* Das aus 10 g Teigwaren oder 0,3—0,5 g Trockeneipulver isolierte Fett (Alkohol-Benzol- oder Äther-Extrakt) wird zur Entfernung des Lecithins in  $5 \text{ cm}^3$  Aceton gelöst und dann durch ein mit Asbest beschicktes *Allihn'sches* Röhrchen an der Wasserstrahlpumpe filtriert und ausgewaschen. Noch besser geht man von den Fettsäuren aus. Dadurch wird in allen Fällen das gesamte (freies und gebundenes) Cholesterin erhalten. Die betr. Fettsäuremenge aus 10 g Eierteigware oder 0,3—0,5 g Eipulver löst man in einem weithalsigen Stehkölbchen in  $5 \text{ cm}^3$  Aceton und gibt die erforderliche Menge Digitoninlösung zu (in der Regel  $10 \text{ cm}^3$ ). Hierauf dampft man bei schräg gestelltem Kölbchen auf einem kochenden Wasserbad zur Trockne ein. Dann wird der Rückstand mit  $50 \text{ cm}^3$  heissem Wasser aufgenommen, der Niederschlag mit einem Glasstab gut

aufgerührt, zum Sieden erhitzt und 2—3 Minuten unter Umrühren gekocht, um das überschüssige Digitonin zu lösen. Alsdann lässt man auf ca. 60° abkühlen, versetzt mit 25 cm<sup>3</sup> Aceton (techn.) und erwärmt nochmals kurze Zeit bis zum beginnenden Sieden. Dadurch wird der koloidale Zustand etwas behoben und das Filtrieren erleichtert. Man filtriert sodann unter schwachem Saugen durch einen mit Asbest beschickten, gewogenen Goochtiiegel den grössten Teil des heissen, trüben Gemisches ab. Wenn ca. 40 cm<sup>3</sup> abfiltriert sind, gibt man 20—30 cm<sup>3</sup> Aceton ins Kölbchen und mischt gut durch; dabei lösen sich die Lipoide weitgehend, und die Filtration geht leicht vonstatten. Hernach wird mit 8 cm<sup>3</sup> Aceton nachgespült, dann schliesslich portionenweise mit je 5 cm<sup>3</sup> Äther, 5 cm<sup>3</sup> Chloroform und 8 cm<sup>3</sup> Äther ausgewaschen, wobei man zunächst vor jeder Waschung das Saugen unterbricht. Dabei ist zu beachten, dass eventuelle Fettreste, welche sich am Tiegelrand angesetzt haben, ebenfalls gelöst werden. Der aussen sorgfältig abgewischte Tiegel wird schliesslich im Trockenschrank bei 100—105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann die Digitonide gewogen.

Durch Multiplikation des Digitonids mit 0,243 erhält man die vorhandene Sterinmenge (Cholesterin oder Phytosterin).

### Zusammenfassung

1. Die gravimetrische Digitoninmethode des Lebensmittelbuches zur Bestimmung der Sterine liefert unzuverlässige, meist viel zu hohe Resultate. Als Ursache kommt überschüssiges Digitonin in Frage, welches mit dem Sterin-Digitonid ausfällt und beim Auswaschen nicht mehr gelöst wird.
2. Es wird eine neue, etwas modifizierte, gravimetrische Methode beschrieben, welche sich an die Mikromethode von *Riffart* und *Keller* anlehnt. Das Reaktionsgemisch wird dabei auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft, dann mit kochendem Wasser aufgenommen und filtriert, wobei der Digitoninüberschuss vollständig entfernt wird.
3. Die Brauchbarkeit der Methode wird durch verschiedene Modellversuche, sowie durch zahlreiche Kontrollbestimmungen nach der kolorimetrischen Methode von *Riffart* und *Keller* bewiesen.

### Résumé

1. La méthode du Manuel pour le dosage gravimétrique des stérines, au moyen de digitonine, donne des valeurs inexactes et le plus souvent trop élevées. Ceci est dû à l'excès de digitonine utilisé, qui précipite avec la combinaison stérine-digitonine et ne s'en laisse plus éliminer par lavage.
2. On décrit une méthode gravimétrique, légèrement modifiée, basée sur la méthode microchimique de *Riffart* et *Keller*. Le mélange réactionnel est évaporé à sec, au bain-marie, repris par de l'eau bouillante et filtré, d'où résulte l'élimination totale de l'excès de digitonine.
3. Divers essais faits avec des mélanges-types ainsi que de nombreux dosages de contrôle, effectués selon la méthode colorimétrique de *Riffart* et *Keller*, ont démontré l'applicabilité de cette méthode.

## Literatur

- 1) Schweiz. Lebensmittelbuch 4. Aufl. S.141, Verlag Zimmermann & Co., Bern (1937).
- 2) *A. Windaus*, Ber. **41**, 2558 (1908).
- 3) *J. Terrier*, diese Mitt. **28**, 184 (1937).
- 4) *H. Riffart* und *H. Keller*, Z.U.L. **68**, 114 (1934).
- 5) *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*, diese Mitt. **40**, 416 (1949).
- 6) *J. Tillmans*, *H. Riffart* und *A. Kühn*, Z.U.L. **60**, 361 (1930).
- 7) Internat. Fettkommission, Fette und Seifen **48**, 536 (1941).
- 8) *H. Riffart* und *H. Keller*, Z.U.L. **68**, 116 (1934).
- 9) *A. Grün*, Analyse der Fette und Wachse, Bd. I S. 262 (1925), Verlag J. Springer, Berlin.
- 10) Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. IV, S. 253 (1939), Verlag Julius Springer, Berlin.
- 11) *J. H. Müller*, J. Biol. Chem. **30**, 39 (1917).
- 12) *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*, Z.U.L. **93**, 277 (1951).

# Die quantitative Tryptophanbestimmung im lichtelektrischen Kolorimeter

Von *M. Staub* und *H. Bosshardt*

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Zürich)

Nach der bekannten Reaktion von *Adamkiewicz*<sup>1)</sup> geben Proteine mit Eisessig und Schwefelsäure beim Erhitzen eine rote bis violette Färbung. Später konnten dann *Hopkins* und *Cole*<sup>2)</sup> zeigen, dass die Reaktion nicht auf den Eisessig, sondern auf dessen Gehalt an Glyoxylsäure zurückzuführen und spezifisch für die Aminosäure Tryptophan ist. *Cary*<sup>3)</sup> entwickelte den Nachweis zu einer quantitativen Bestimmungsmethode, indem er die zu prüfenden Lösungen mit dem Glyoxylsäurereagens von *Hopkins* und *Cole* versetzte und sie mit Tryptophanlösungen bekannter Stärke kolorimetrisch verglich.

Wir überprüften zunächst die Behauptung, ob wirklich Glyoxylsäure und nicht Eisessig, der meist etwas Glyoxylsäure enthält, für die Farbreaktion mit Tryptophan verantwortlich sei. Nachher untersuchten wir, ob die Farbreaktion das Beer-Lambertsche Gesetz erfülle. Diese Bedingung muss erfüllt sein, wenn man eine quantitative Bestimmung im Kolorimeter durchführen will.

## Versuchsteil

### *Darstellung von Tryptophan*

Da Tryptophan im Handel sehr teuer ist, empfiehlt sich dessen Darstellung aus Casein nach der Vorschrift in *Beilsteins* Handbuch der organ. Chemie<sup>4)</sup>.

### *Herstellung von chemisch reiner Essigsäure*

Man lässt Eisessig des Handels einige Tage über Chromsäure stehen. Darauf wird abdestilliert. Das Destillat wird nochmals einige Tage über Chromsäure